

化学交联葡萄糖基取代聚膦腈水凝胶制备和胰岛素释放研究*

刘志玲 张 力 洪 挺 蔡 晴** 金日光

(北京市新型高分子材料制备与加工重点实验室 北京化工大学 北京 100029)

摘 要 在合成了葡萄糖基和甲氧乙氧基共取代聚膦腈的基础上,进一步通过向聚膦腈主链引入一定量带自由氨基的取代基,与戊二醛反应交联后,获得了具有化学交联点的聚膦腈水凝胶.该水凝胶与伴刀豆球蛋白(Con A)结合后,水凝胶的溶胀平衡性能表现出对葡萄糖浓度的依赖性.将负载有胰岛素的聚膦腈水凝胶交替置于含不同葡萄糖浓度(4 mg/mL 和 1 mg/mL)的介质中,可检测到在高浓度葡萄糖环境下,胰岛素的释放明显加快,而当葡萄糖的浓度降低后,在一段时间内几乎检测不到胰岛素的释放,但随着浸泡时间的延长,仍会逐渐出现胰岛素从凝胶缓慢扩散释放的现象.以上研究表明,化学交联的葡萄糖基取代聚膦腈水凝胶可用于对胰岛素的葡萄糖响应释放.

关键词 葡萄糖响应性,聚膦腈,水凝胶

胰岛素是胰岛素依赖性糖尿病患者的首选药物,胰岛素的给药不同于其他药物,它需要在适当的时间给予准确的剂量来确保正常的血糖浓度.在诸多胰岛素给药系统中,最具有挑战性的是自调式给药系统,即具有对葡萄糖的感应能力和自动的开关机制以达到控制释放的目的^[1,2].目前,葡萄糖响应的胰岛素控制释放主要有基于葡萄糖氧化酶或植物凝集素的水凝胶体系,其中,因伴刀豆球蛋白(Con A)具有能与D-甘露糖基和D-葡萄糖基等特定糖分子发生可逆相互作用的特性,被广泛用于对胰岛素的葡萄糖响应释放^[3~5].例如, Kim^[6,7]等利用Con A对游离和被键合葡萄糖的结合能力差异,研制了葡萄糖响应的胰岛素释放体系,他们通过将糖基化的胰岛素与Con A形成复合体,实现了对外界葡萄糖浓度进行响应的胰岛素释放.基于植物凝集素与糖基化聚合物之间的可逆相互作用,具有葡萄糖响应性的凝胶-溶胶互变体系也得到了广泛研究^[8~14].其中,主要是应用烯丙基葡萄糖与含双键单体的共聚物^[8,9],糖基化聚乙烯醇^[10]或聚甲基丙烯酸(2-葡萄糖基)氧乙酯^[11~14]等高分子与Con A形成水凝胶,在外界游离葡萄糖的作用下实现溶胶-凝胶的互变以控制胰岛素的释放.上述控制释放体系多采用植入体内的方式,但这些聚合物多以碳碳链为主链,溶蚀性差,在药物释放完毕后需二次手

术取出.因此,如果高聚物体系是可生物降解的,将使该控制释放体系更具有实用性.本实验室利用葡萄糖对聚二氯膦腈的亲核取代反应,成功制备了带有葡萄糖侧基聚膦腈,不仅可利用葡萄糖侧基与Con A的作用形成对游离葡萄糖具有响应性的水凝胶^[15],同时葡萄糖取代聚膦腈已被证明是生物可降解性的^[16].但是,不管是我们制备的基于Con A交联的聚膦腈水凝胶,还是文献报道的水凝胶体系,都常因为缺乏化学交联,在高浓度葡萄糖介质中易发生解体现象,从而失去对胰岛素控制释放的能力.本文以水溶性好的葡萄糖与甲氧乙氧基共取代聚膦腈为基础,通过与二甘醇胺的取代反应,在聚膦腈侧链进一步引入适量伯氨基,用戊二醛进行化学交联后,再加入Con A形成对葡萄糖具有响应性的水凝胶.测试比较所得水凝胶在不同葡萄糖浓度下的吸水率,并负载胰岛素在两种葡萄糖浓度(4 mg/mL 和 1 mg/mL)下进行了体外释放行为的测定.

1 实验部分

1.1 原料

六氯环三膦腈(98%,宁波博源新材料技术有限公司),用前重结晶和减压升华纯化; α -D-葡萄糖(北化恒业精细化学有限公司)分析纯,直接使用;ZnCl₂(汕头市西陇化工厂)分析纯,直接使

* 2009-03-30 收稿,2009-05-11 修稿;国家自然科学基金(基金号 50873012)资助项目;** 通讯联系人,E-mail:caiqing@mail.buct.edu.cn

用;磷酸(85%,北京世纪红星化工有限责任公司)分析纯,直接使用;三乙胺(北京世纪红星化工有限责任公司)分析纯(加 NaOH 回流 2 h 后蒸馏备用);甲氧基乙醇(分析纯)(10 Å 分子筛干燥后蒸馏备用);三氟乙酸(北京化学试剂公司)化学纯,直接使用;伴刀豆球蛋白(Con A)(Sigma 试剂公司, -20℃ 下保存),胰岛素(Sigma 试剂公司, -20℃ 下保存),二甘醇胺(Sigma 试剂公司),二碳酸二叔丁酯(BOC_2O)(分析纯,北京化学试剂公司),其他试剂均按常规方法干燥纯化。

1.2 主要表征手段

$^1\text{H-NMR}$, Bruker 公司 AV600 核磁共振波谱仪. 红外测试采用 Nicolet 公司的 Nexus-670FT-IR, KBr 压片. 特性黏数由乌氏黏度计测定, 温度 30℃, 以水或氯仿作溶剂. 透光率测定采用尤尼柯(上海)仪器有限公司 UV-2000 型紫外可见分光光度计.

1.3 *N*-叔丁氧羰基保护二甘醇胺的合成

将二甘醇胺(0.03 mol)和三乙胺(0.03 mol)溶于 70 mL 干燥 THF, 并置于冰水浴中, 然后在搅拌下, 将溶有 BOC_2O (0.03 mol) 的 THF (30 mL) 溶液缓慢滴加到上述体系中. 滴加完毕后移除冰水浴, 室温反应 15 h, 旋转蒸发去除 THF 后, 加入 50 mL 氯仿进行萃取. 所得溶液经水萃取 3 次后, 用无水硫酸镁干燥过夜. 过滤除去不溶物, 除去氯仿后得黄色黏稠的油状物, 25℃ 真空干燥 12 h, 收率约 50%. 所得到 *N*-叔丁氧羰基保护二甘醇胺的结构经 $^1\text{H-NMR}$ 得到确认, 密封待用. $^1\text{H-NMR}$ (溶剂为 CDCl_3 , δ): 4.127 ($-\text{OCH}_2-$), 3.819 ($-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$), 3.221 ($-\text{CH}_2\text{NH}-$), 1.386 ($-\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 峰面积的积分比例为 2:4:29. 核磁谱图的特征吸收峰与文献[17]所报道的一致.

1.4 葡萄糖基/甲氧基乙氧基/氨乙氧基乙氧基共取代聚膦腈(PGMGP)的合成

聚二氯膦腈和 1,2:5,6-di-O-异亚丙基- α -D-呋喃葡萄糖按文献[15]合成. 将 1.16 g (0.01 mol PNCl_2) 的聚二氯膦腈溶于 THF (100 mL), 将 *N*-叔丁氧羰基保护二甘醇胺的 THF 溶液(由 0.001 mol 叔丁氧羰基保护二甘醇胺与 0.002 mol 金属钠在 30 mL THF 中室温反应 24 h 得到)滴加入上述溶液, 回流状态下反应 6 h 后, 再将 100 mL 预先制备的 1,2:5,6-di-O-异亚丙基- α -D-葡萄糖醇钠干燥 THF 溶液(由 0.02 mol 1,2:5,6-di-O-异亚丙基- α -D-葡萄糖与 0.022 mol 金属钠在 THF 中

室温反应 24 h 制备)加入上述溶液中, 并继续回流反应 96 h. 最后, 将 100 mL 甲氧基乙醇钠的 THF 溶液(由 0.02 mol 甲氧基乙醇和 0.022 mol 金属钠在 THF 中室温反应 24 h 制备)缓慢滴加到上述体系中, 50℃ 继续反应 24 h. 离心除去不溶物后, 旋转蒸发去除大部分溶剂得到黏稠状液体, 将此黏稠液体用石油醚沉淀、甲醇透析(透析袋截留分子量 12000)纯化 3 天后, 旋转蒸发去除溶剂, 于 40℃ 下真空干燥. 收率约 70%.

按照文献[18], 采用 90% 的三氟乙酸进行异亚丙基和叔丁氧羰基保护基的脱除, 得脱保护产物的收率约 40%. 以氯仿为溶剂, 在 30℃ 测得聚合物的特性黏数为 17.2 mL/g.

1.5 水凝胶的制备

将 0.5 g 干燥的 PGMGP 聚合物溶于 2 mL 水得到均匀溶液后, 再冷冻干燥除去水得到多孔聚合物薄膜, 将其浸入 2 mL 浓度为 5% 的戊二醛水溶液中, 交联 24 h 后用去离子水萃取除去未参加反应的戊二醛和聚合物, 得到聚膦腈水凝胶, 冷冻干燥后待用.

1.6 水凝胶溶胀度的表征

称取适量(W_d)干态水凝胶, 浸泡于含有不同葡萄糖浓度、pH = 7.4 磷酸盐缓冲溶液(PBS)中, 并恒温(37 ± 1)℃. 每隔一段时间, 将凝胶取出、用滤纸吸干表面游离水后称重(W_f), 然后按下式计算凝胶的溶胀度 D_{sw} :

$$D_{sw} = (W_f - W_d) / W_d$$

式中 W_d 为水凝胶的干重(g); W_f 为水凝胶的湿重(g).

1.7 胰岛素的体外释放研究

1.7.1 胰岛素标准曲线的绘制 准确称取一定量胰岛素, 溶解于 0.1 mol/L HCl 溶液中, 再加入 0.1 mol/L NaOH 溶液调节至 pH = 7.4, 配成具有不同胰岛素浓度(c)的溶液, 在 226 nm 波长测其吸光度(A). 以浓度 c 为横坐标, 吸收值 A 为纵坐标, 绘制标准曲线. 所得线性方程为 $A = 0.01581 + 8.16088c$ ($r = 0.9990$), 在 1.52 ~ 380 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内线性关系良好.

1.7.2 聚膦腈水凝胶对胰岛素的体外释放

将 Con A 溶于去离子水配成 4.2 mg/mL 的溶液, 取 100 μL 滴加到干态聚膦腈水凝胶(0.15 g)上, 置于冰箱冷藏室中, 待 Con A 溶液完全被凝胶吸收后, 用去离子水萃取除去未参加反应的 Con A, 冷冻干燥. 然后再向凝胶上滴加胰岛素水溶液

(10 mg/mL) 100 μ L, 置于冰箱冷藏室中, 约 30 min 后胰岛素溶液完全被凝胶吸收. 将上述水凝胶交替(时间间隔 2 h)放入 pH = 7.4、含有不同葡萄糖浓度(4 和 1 mg/mL)的 PBS 缓冲液(20 mL)中, 置于(37 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C 的恒温摇床(50 r/min), 每隔 10 min 取出 3 mL 释放液, 同时补回 3 mL 新鲜释放液. 以取自空白样的试液为参比, 在 226 nm 下测定吸光度, 对照胰岛素标准曲线进行计算.

2 结果与讨论

2.1 聚合物的合成与表征

在制得线形聚二氯磷腈中间体后, 利用强亲核取代试剂与 P-Cl 反应可以获得具有不同取代侧基的聚磷腈. 本文所合成的葡萄糖基/甲氧基乙氧基/氨乙氧基乙氧基共取代聚磷腈(PGMGP), 其中 *N*-叔丁氧羰基保护二甘醇胺和 1,2:5,6-di-O-异亚丙基- α -D-呋喃葡萄糖的体积位阻都很大, 取代反应较难进行, 因此宜先采用它们的钠盐与聚二氯磷腈进行取代反应, 然后再用体积位阻较

小的过量甲氧基乙醇钠来取代剩余的 P-Cl, 防止因 P-Cl 未能被完全取代而引起产物在纯化处理及贮存过程中交联. 利用 *N*-叔丁氧羰基保护二甘醇胺的钠盐来进行取代的目的, 是为了在聚磷腈中引入一定量的侧氨基, 使我们可以采用二醛或二异氰酸酯类物质来进行交联. 而葡萄糖侧基的功能主要是与 Con A 形成物理交联, 赋予水凝胶葡萄糖响应性. 因此, 前者在聚合物中的比例要低于后者. 所以在制备该聚磷腈聚合物时, 采用的是 *N*-叔丁氧羰基保护二甘醇钠、1,2:5,6-di-O-异亚丙基- α -D-呋喃葡萄糖醇钠和甲氧基乙醇钠顺序取代的反应过程.

图 1(A) 和(B) 分别是利用三氟乙酸进行脱保护以前和以后的葡萄糖基/甲氧基乙氧基/氨乙氧基乙氧基共取代聚磷腈的 ^{1} H-NMR 谱图. 在图 1(A) 中, 组峰 a(δ = 1.30 ~ 1.48) 对应于 1,2:5,6-di-O-异亚丙基- α -D-呋喃葡萄糖中的异亚丙基的 4 个甲基, 组峰 b(δ = 4.05 ~ 4.52 和 δ = 5.93) 对应于 1,2:5,6-di-O-异亚丙基- α -D-呋喃葡萄糖中呋喃糖的 6 种碳氢质子. 峰 c(δ = 3.38)、

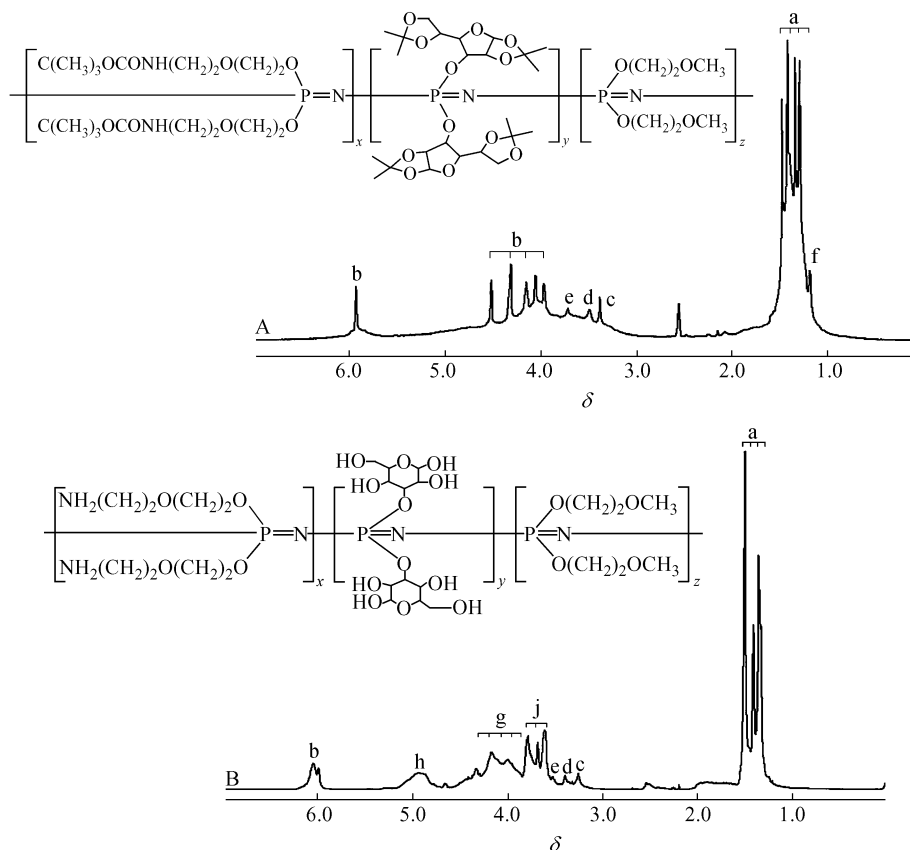


Fig. 1 ^{1} H-NMR spectra of poly(glucosyl-co-methoxyethoxyl-co-2-(2-aminoethoxy)ethoxyl)phosphazene before (A) and after deprotection (B)

d($\delta = 3.71$)和e($\delta = 3.96$)分别对应于甲氧基乙氧基中的甲基($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$)、与甲氧基相邻的亚甲基($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$)以及与甲氧基相隔一个碳的亚甲基($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$)。峰f($\delta = 1.19$)对应于叔丁氧羰基上的甲基。二甘醇胺的4个亚甲基出现在 $\delta = 4.127$ ($-\text{OCH}_2-$), 3.819 ($-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$)和 3.221 ($-\text{CH}_2\text{NH}_2$),与葡萄糖的质子峰重叠,难以辨认。而从图1(B)可以看到,用三氟乙酸对聚合物进行脱保护处理后,甲氧基乙氧基的3个峰(峰c,d和e)清晰可辨,但峰f消失,说明叔丁氧羰基已被脱除,氨基被还原;峰a的强度也明显减小,同时还出现了新的组峰g($\delta = 3.78 \sim 4.33$)和峰h($\delta = 4.94$),峰h对应于吡喃型葡萄糖的碳(C-1)氢质子,组峰g则对应于葡萄糖的另外5种碳氢质子。但是,根据仍然存在对应于呋喃型糖的碳(C-1)氢质子峰(峰b)和异亚丙酮亚甲基质子峰(峰a)的事实,说明异亚丙酮基的脱除是不完全的。

红外光谱的测试结果如图2所示,脱保护前的聚合物(图2a)在 1700 cm^{-1} 处出现羰基振动吸收峰,证明叔丁氧羰基的存在, 1650 cm^{-1} 处的特征峰指示呋喃糖的存在, $-\text{P}=\text{N}-$ 和 $=\text{P}-\text{N}=-$ 的吸收峰分别出现在 1218 和 850 cm^{-1} ,代表膦腈主链。经过强酸脱保护后,膦腈主链的磷氮振动吸收峰(1215 和 851 cm^{-1})和糖分子的振动吸收峰(1688 cm^{-1})仍然存在,但位于 1700 cm^{-1} 处的羰基吸收峰消失,以及 3300 cm^{-1} 附近的吸收峰强度显著增加,说明脱保护处理可使氨基及羟基被还原,且未造成对膦腈主链的显著破坏。

结合 $^1\text{H-NMR}$ 和红外的分析结果可知,本文合成了葡萄糖基/甲氧基乙氧基/氨乙氧基乙氧基共取代聚膦腈,但三氟乙酸的处理只能将叔丁氧羰基完全脱除,而葡萄糖上的异亚丙基不能被完全去除。根据 $^1\text{H-NMR}$ 谱图中各组氢质子峰的积分可以计算出本研究所用聚合物中葡萄糖基、葡萄糖缩二丙酮基、氨乙氧基乙氧基及甲氧基乙氧基之比为 $34.6\%:23.7\%:14.2\%:27.5\%$ 。根据我们以前的研究^[15],异亚丙酮基要完全脱除是非常困难的,而且在强酸下作用时间越长,聚合物的分子量下降越严重,而一定量异亚丙酮保护基的存在还有可能参与平衡水凝胶的亲疏水性能,因此在本文中也未追求100%的脱保护度。

2.2 聚膦腈凝胶的形成和溶胀行为

制备聚膦腈水凝胶时,起初我们采用将戊二

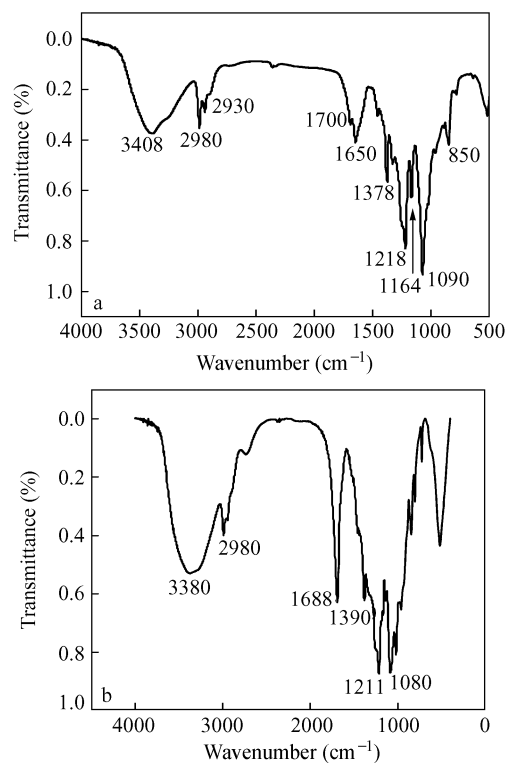


Fig. 2 Infrared spectra of poly(glucosyl-co-methoxy-ethoxyl-co-2-(2-aminoethoxy) ethoxyl) phosphazene before (a) and after deprotection (b)

醛溶液滴加到聚膦腈水溶液中的方法,但由于交联反应速度快,得到的凝胶均匀性很差,几乎没有强度。将致密聚膦腈膜直接浸入戊二醛溶液,虽然可以得到交联的凝胶,但由于戊二醛扩散速度的影响,宏观即可见凝胶的表层和内部交联程度差异。将聚膦腈水溶液冷冻干燥后获得的多孔膜,有效地改进了戊二醛向材料内部的扩散,使交联反应可以比较均匀地发生,从而获得了外观颜色均匀、具有一定强度的聚膦腈凝胶。

将经戊二醛交联和去离子水浸泡纯化的聚膦腈水凝胶,采用室温真空或冷冻干燥后,分别得到致密的和多孔的凝胶膜,测定它们在PBS缓冲溶液中的溶胀行为,结果如图3所示。该聚膦腈凝胶最高可达540%的吸水率,致密凝胶膜的溶胀速度比较缓慢,需要在4.5 h后才能达到溶胀平衡,但多孔凝胶膜的初期溶胀速度显著加快,达到溶胀平衡的时间也相对缩短。这说明凝胶的尺寸越小、孔隙越多,溶胀速度也越快。但凝胶的吸水率主要受到聚膦腈侧基结构和比例的影响,侧基越亲水,且交联程度低,聚膦腈材料就越亲水。

将上述经化学交联的多孔聚膦腈水凝胶与Con A复合后,置于含有不同葡萄糖浓度的PBS

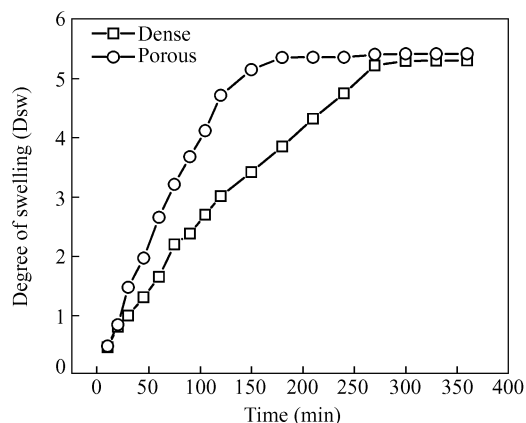


Fig. 3 Swelling behaviors of glutaraldehyde crosslinked poly (glucosyl-co-methoxyethoxyl-co-2-(2-aminoethoxy) ethoxyl) phosphazene dense and porous hydrogels

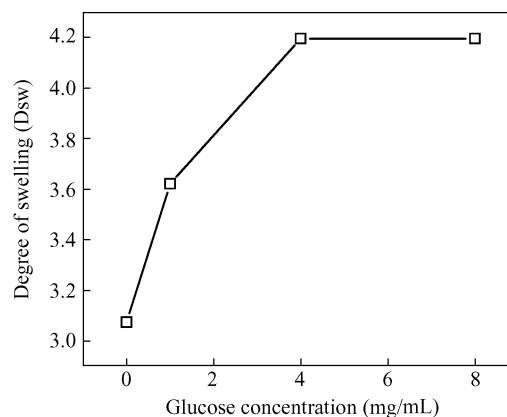


Fig. 4 Effect of glucose concentration on swelling behavior of Con A-loaded poly (glucosyl-co-methoxyethoxyl-co-2-(2-aminoethoxy) ethoxyl) phosphazene hydrogel

缓冲液中 3 h 达到溶胀平衡后,测得凝胶吸水率随葡萄糖浓度变化的趋势(图 4). 虽然由于交联程度的增加,凝胶的饱和吸水率要低于单纯化学交联的凝胶,但该水凝胶的吸水率具有显著的葡萄糖响应性. 随着溶液中葡萄糖浓度从 0 mg/mL 增加到 4 mg/mL,凝胶的吸水率直线上升,但随着葡萄糖浓度继续升高,凝胶的溶胀已趋近饱和. 这个现象说明,当溶液中存在游离葡萄糖分子时,由于 Con A 与游离葡萄糖分子的结合能力大于与接枝在聚膦腈主链上葡萄糖侧基的结合能力,因此游离的葡萄糖可以与聚膦腈中的葡萄糖竞争 Con A 上的结合位点,竞争的结果使网络结构变得弛豫,因此凝胶的吸水率升高,而这一点也正是利用上述聚膦腈水凝胶实现对胰岛素的葡萄糖响应释放的理论基础. 但本文所制备的聚膦腈凝胶中存在共价的交联点,不会像文献[15]中单纯用 Con A 交联的凝胶那样在含有游离葡萄糖的溶液发生解体. 从图 3 和图 4 的数据对比可以看出,由于 Con A 的加入,通过与葡萄糖侧基的相互作用会增加凝胶的交联程度,因此凝胶的平衡溶胀度有所降低.

2.3 聚膦腈水凝胶对胰岛素的体外释放

将负载了 Con A 和胰岛素的聚膦腈水凝胶交替置于葡萄糖浓度分别为 4 和 1 mg/mL 的 PBS 溶液中,在 37℃ 下测定胰岛素的释放行为. 图 5 为每隔 10 min 取样测定释放的胰岛素量后,计算得到的胰岛素释放速率曲线,葡萄糖浓度每隔 2 小时更替一次.

从图 5 可知,随着释放介质中葡萄糖浓度的交替变化,聚膦腈水凝胶对胰岛素呈现出脉冲释

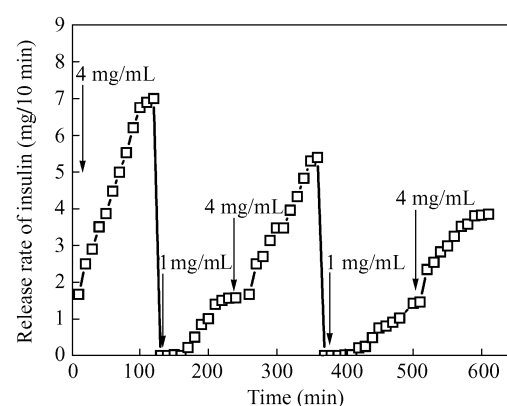


Fig. 5 Insulin release rate as a function of time through Con A-loaded poly (glucosyl-co-methoxyethoxyl-co-2-(2-aminoethoxy) ethoxyl) phosphazene hydrogel under stepwise changes of the glucose concentration

放的趋势. 在 0 ~ 120 min,当释放介质中葡萄糖浓度为 4 mg/mL 时,胰岛素的释放速率较快,随浸泡时间延长呈现加快趋势;在 120 ~ 240 min 之间,当介质中的葡萄糖浓度降为 1 mg/mL,胰岛素的释放速率明显减慢;当凝胶再度置于葡萄糖浓度为 4 mg/mL 的环境中后,胰岛素释放速率又显著增加. 此外可清楚地观察到,当介质中葡萄糖浓度从 4 mg/mL 变为 1 mg/mL 时,有大约 30 min 的时间几乎检测不到胰岛素的释放,随后才由于凝胶中的水环境,有胰岛素缓慢扩散释放出来. 这个现象说明,当介质中的葡萄糖浓度下降后,处于高度溶胀的凝胶的表面的 Con A 很快又与聚膦腈的葡萄糖侧基结合,使凝胶表面的交联度增加,形成壳层,从而抑制了胰岛素的释放. 但随着更多的 Con A 参与形成物理交联点,凝胶开始收缩,将内

部的水分缓慢排除,在这个过程中仍会有胰岛素被缓慢释放出来.图6为胰岛素的累计释放量随时间的变化,由图可知,胰岛素的释放量随着介质中葡萄糖浓度的升高和降低呈现出明显的台阶式变化,说明虽然在低浓度葡萄糖介质中仍然能检测到胰岛素的释放,但在该阶段胰岛素的释放量

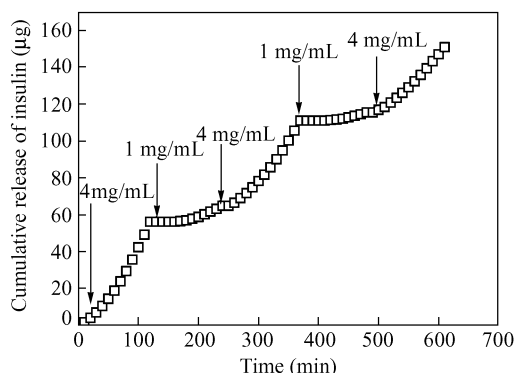


Fig. 6 Cumulative release of insulin as a function of time through Con A-loaded poly (glucosyl-co-methoxyethoxyl-co-2-(2-aminoethoxy) ethoxyl) phosphazene hydrogel under stepwise changes of the glucose concentration

并不大.但是图5和图6的数据都显示,在经过了几次循环后,聚膦腈水凝胶对葡萄糖响应的灵敏性明显下降.这和葡萄糖在水凝胶中的扩散性能有关,即介质中的葡萄糖未必能充分扩散进入凝胶的内部,介质中葡萄糖浓度的变化更多地是反映在对凝胶表层的影响上,当接近凝胶表层的胰岛素已基本被释放后,凝胶对葡萄糖的响应性也就自然降低了.通过减小凝胶体积、增大凝胶的比表面积,可以改善这个问题.

3 结论

通过在葡萄糖取代聚膦腈中引入氨基、戊二醛交联的方法而得到的化学交联聚膦腈水凝胶,与Con A结合后,水凝胶的溶胀性不仅具有明显的葡萄糖浓度依赖性,其稳定性也明显优于单纯由Con A与葡萄糖侧基反应形成的物理交联水凝胶,并可实现对胰岛素的葡萄糖响应释放,但更理想的释放行为还需要进一步通过调节氨基和葡萄糖基的引入量,以及选择合适的共取代基等手段来调控.

REFERENCES

- Zhu Ying (朱颖), Zheng Liangyuan (郑梁元). Chinese Pharmaceutical Journal (中国药学杂志), 2005, 40(5): 331 ~ 334
- Flood T. Insulin, 2006, 1(3): 99 ~ 108
- Qiu Y, Park K. Adv Drug Deliver Rev, 2001, 53: 321 ~ 339
- Miyata T, Urugami T, Nakamae K. Adv Drug Deliver Rev, 2002, 54: 79 ~ 98
- Gestwicki J E, Strong L E, Kissling L L. Angew Chem Int Edit, 2000, 39: 4567 ~ 4570
- Seminoff L A, Olsen G B, Kim S W. Int J Pharm, 1989, 54: 241 ~ 249
- Kim S W, Paii C M, Kimiko M, Seminoff L A, Holmberg D L, Gleeson J M, Wilson D E, Mack E. J Control Release, 1990, 11: 193 ~ 201
- Lee S J, Park K. J Mol Recognit, 1996, 9: 549 ~ 557
- Kim J J, Park K. J Control Release, 2001, 77: 39 ~ 47
- García-Oteiza M C, Sánchez-Chaves M, Arranz F. Macromol Chem Phys, 1997, 198(7): 2237 ~ 2247
- Obaidat A A, Park K. Pharm Res, 1996, 13: 989 ~ 995
- Obaidat A A, Park K. Biomaterials, 1997, 18: 801 ~ 806
- You L C, Lu F Z, Li Z C, Zhang W, Li F M. Macromolecules, 2003, 36(1): 1 ~ 4
- Miyata T, Jikihara A, Nakamae K, Hoffman A S. Macromol Chem Phys, 1996, 197(3): 1135 ~ 1146
- Piao Xiuyu (朴秀玉), Cai Qing (蔡晴), Jin Riguang (金日光). Acta Polymerica Sinica (高分子学报), 2006, (2): 141 ~ 147
- Allcock H R, Pucher S R, Scopelianos A G. Macromolecules, 1994, 27(1): 1 ~ 4
- Allcock H R, Chang J Y. Macromolecules, 1991, 24: 993 ~ 999
- Medici A, Fantin G, Pedrini P, Glefia M, Minto F. Macromolecules, 1992, 25: 2569 ~ 2574

PREPARATION OF A GLUCOSE-SENSITIVE POLYPHOSPHAZENE HYDROGEL AND ITS INSULIN RELEASE BEHAVIOR

LIU Zhiling, ZHANG Li, HONG Ting, CAI Qing, JIN Riguang

(*Key Laboratory of Beijing City on Preparation and Processing & Novel Polymer Materials,
Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029*)

Abstract A novel kind of biodegradable glucose-sensitive polyphosphazene hydrogel has been prepared basing on both the chemical crosslinking and the specific interaction between polymer-bound glucose and concanavalin A (Con A). Glucosyl-co-methoxyethoxyl-co-2-(2-aminoethoxy) ethoxyl substituted polyorgano-phosphazene was synthesized by subsequently nucleophilic substitution of polydichlorophosphazene with 2-[2-((tert-butoxycarbonyl) amino) ethoxy] ethanol, diisopropylidene D-glucose and methoxyethanol, which was followed by deprotection treatment with trifluoroacetic acid to restore glycosyl and free amino groups. A chemical crosslinked hydrogel was obtained by reacting the above polymer with glutaraldehyde. The polyphazene hydrogel showed good swelling behavior in phosphate buffer solutions, and exhibited glucose-sensitive water absorption after Con A being loaded. No macroscopic deformation could be observed by immersing the Con A-loaded polyphosphazene hydrogel into aqueous solution with high content of glucose for the presence of chemical crosslinking. The release rate of insulin from this polyphosphazene hydrogel depended on the concentration of free glucose in medium obviously. As the glucose concentration was increased from 1 mg/mL to 4 mg/mL, the release rate of insulin from the hydrogel increased, whereas, the release rate decreased when the glucose concentration was reduced to 1 mg/mL. The results demonstrated the possibility of using chemical crosslinked glucose-bearing polyphosphazene to prepare glucose-sensitive hydrogels in combination with Con A and to regulate the insulin release as a function of the free glucose concentration in the environment.

Keywords Glucose-sensitive, Polyphosphazene, Hydrogel